593.1:616.961

PROTOZOARIOS PARASITAS

IV. Protozoarios novos de tapirideos

POR

FLAVIO DA FONSECA

Os protozoarios descritos na presente nota provêm do exame de material colhido de um exemplar de *Tapirus* da especie clara, de tamanho medio, provavelmente *Tapirus roulinus*, conhecida pelo nome vulgar de "anta sapateira", denominação esta que lhe dão os caçadores devido à conformação alongada dos dedos, em oposição à fórma curta observada na especie negra e maior, o *Tapirus americanus*. Esta anta, capturada muito jovem em S. Romão, Pirapora, Estado de Minas Gerais, foi-nos remetida pelo missionario Frei Bertholdo von Mee, ao qual somos muito grato, tendo chegado a Butantan com cerca de tres meses de idade. Sómente um ano após sua chegada, ao serem feitos pela primeira vez exames de fezes, foi observado o parasitismo pelos protozoarios abaixo descritos, sendo de notar que a saude e desenvolvimento do animal têm sido excelentes, apesar de mantido nos ultimos seis meses em um simples "box" da coudelaria do Instituto.

Queremos ainda assinalar que o *Tapirus* em questão, durante os primeiros meses que sucederam à sua chegada, foi conservado no bioterio geral do Instituto, onde existem cerca de dois a tres mil cobaias, coelhos e ratos, animais estes tambem parasitados por varias especies pertencentes aos mesmos generos. Tivemos, por exemplo, ocasiões de encontrar no bioterio do Instituto Butantan *Endamoeba cobayae* (WALKER), que é frequente em nossas cobaias, ao contrario de *Endolimax caviae* HEGNER (*), que nunca poude ser por nós assinalada; *Endamoeba muris* GRASSI, ocorre tambem na criação de murideos. De ambas estas especies se distingue *Endamoeba dobelli*, sp.n. pela disposição granular e periferica da cromatina nuclear, além de outros caracteres.

(*) *Hegner, R. W.* — The J. of Parasitology *12*:146.1926.

Chilomastix intestinalis Kuszinki, de cobaias. e *Chilomastix bittencourti* O. da Fonseca, de ratos, são tambem especies comuns em nosso bioterio: as respectivas descrições diferem, porém, das da nova especie encontrada. A *Trichomonas caviae* (Davaine), da cobaia, a *Trichomonas muris* (Galli-Valerio), de ratos, ambas especies já por nós observadas em animais do Instituto, bem como às varias outras especies parasitas de ratos que já têm sido descritas, só forçadamente poderia ser identificada a n.sp. *Trichomonas navasi*, que é facilmente cultivavel, ao contrario de *Trichomonas muris*, e cuja membrana ondulante só dificilmente se deixa corar.

As descrições são feitas de esfregaços de fezes corados pela hemoteina, segundo a tecnica proposta por Gilberto de Freitas nas Memorias do Instituto Oswaldo Cruz *31*(3):707.1936.

Endamoeba dobelli, sp. n.

(Figs. 1 e 2)

Forma vegetativa (Fig. 1) — Dimensões variando de cerca de 8µ 5 a 13µ6, nunca sendo visto pseudopodos nos exemplares fixados. Protoplasma finamente granuloso, às vezes vacuolar ou com granulações maiores, sem diferenciação entre endo- e ectoplasma, às vezes com inclusões, frequentemente com um grande vacuolo, incluindo uma grande bacteria com forma de *Coccus* (*Sarcina?*). Não raro o protoplasma apresenta vacuolos, geralmente em pequeno numero. Nucleo de contorno nem sempre perfeitamente circular, de tamanho proporcional ao da ameba, oscilando em geral de 2 a 2µ5. Cromatina periferica dispondo-se em granulos junto à membrana nuclear. Cariosoma central ou sub-central, circular ou ligeiramente alongado, com 1/3 a 1/16 do diametro do nucleo, parecendo menor nos exemplares mais diferenciados.

Cistos (Fig. 2) — Cistos uninucleados, com cerca de 4µ25 a 7µ, de contorno circular, com membrana protoplasmatica fina, protoplasma condensado e com granulações não raro volumosas. Nucleo igual ao da forma vegetativa, variando o tamanho de 1µ7 a 2µ5, sendo, portanto, às vezes extremamente volumoso em relação ao tamanho da ameba. E' interessante assinalar que os granulos cromaticos, tanto nos cistos quanto nas formas vegetativas, quasi nunca se encontram em toda a volta da membrana nuclear.

Dos tres protozoarios que ocorriam no mesmo animal eram o *Eutrichomastix* e a nova *Endamoeba* os mais abundantes, sendo vistos às vezes duas ou tres amebas no mesmo campo examinado com objetiva de imersão.

Cultura — Semeadas as fezes em meio ovomucoide de Hogue, tendo em vista a obtenção de cultura dos flagelados, desenvolveram-se tambem as

Endamebas, apresentando-se a maioria encistada. Formas vegetativas foram, entretanto, vistas mesmo em culturas de 5 dias. Repicado o material, da 3.ª passagem em meio de Hogue, para meio Löffler + Ringer, segundo Simitch, a cultura de 48 horas apresentou-se rica em formas vegetativas, que se tornam muito moveis quando aquecidas, mas que à temperatura ambiente se imobilizam.

Lamina tipo No. 3433, esfregaço de fezes corado pela hemateina, segundo Gilberto de Freitas, depositada na coleção da Secção de Parasitologia do Instituto Butantan.

Chilomastix navasi, sp. n.

(Fig. 3)

Contorno geralmente periforme e alongado, mais raramente alargado, de extremidade posterior de regra bruscamente afilada. As dimensões oscilam entre 7µ5 e 13µ para o comprimento e 4µ5 e 7µ para a maior largura. O protoplasma apresenta-se muito vacuolado e o citostoma é alongado e aparentemente estrangulado no meio, com labios pouco cromofilos e flagelo aderente à membrana ondulante raras vezes visivel. Nucleo anterior, circular, com 1µ6 a 2µ5 de diametro, sem cariosoma individualizado, vendo-se às vezes alguns granulos cromaticos no seu interior; não ha aglomeração de cromatina periferica, formando calota, como em *Ch. bittencourti* O. da Fonseca, parasita de ratos, *Ch. intestinalis* Kuzinski, de *Cavia porcellus* e *Ch. olympioi* F. da Fonseca, de *Dasyprocta aguti*, *Ch. cuniculi* O. da Fonseca, de *Oryctolagus cuniculi* e *Ch. mesnili* (Wenyon), de *Homo*.

Os flagelos são tres, anteriores e curtos, geralmente com 5µ, raramente com 10µ.

A cultura em meio ovomucoide de Hogue foi negativa, bem como no de Löffler + Ringer, segundo Simitch.

Lamina tipo No. 3380, corado pela hemateina, segundo Gilberto de Freitas, depositada na coleção da Secção de Parasitologia do Instituto Butantan.

Trichomonas tapiri, sp. n.

(Figs. 4, 5 e 6)

A fresco e em esfregaços de fezes apresenta-se o flagelado muito movel, avançando de preferência por entre os detritos, com membrana ondulante estreita, pouco visivel, porém perceptivel graças ao flagelo que a margea em toda a extensão do flagelado e que com ela ondula. Não foi, entretanto, possivel contar os flagelos a fresco, devido ao seu rapido movimento.

Em preparados de fezes corados segundo a tecnica de Gilberto de Freitas (hemateina e diferenciação pelo acido picrico), que tem dado ótimos resultados em nossas mãos, só raras vezes nos foi dado ver elementos identificaveis a *Trichomonas*, apresentando-se sempre a membrana encurtada, como que retraída, conforme mostra a Fig. 4.

Tais elementos mediam 8μ5 X 6μ ou mais frequentemente 12 — 12μ5 X 8 — 12μ5, apresentando fórma eliptica ou quasi circular, um grande nucleo anterior uniformemente corado, com cerca de 3μ5, não tendo sido possivel distinguir o cariosoma, o que talvez seja devido à intensidade com que toma a coloração, tornando dificil a diferenciação dos esfregaços. Um axostilo, largo, sempre de percepção dificil, percorre o corpo e faz saliencia posterior. Os flagelos são quatro, dos quais tres anteriores, muito longos, chegando a atingir 20μ, partindo dois deles de um mesmo granulo basal anterior. Um outro flagelo percorre o bordo externo da membrana ondulante, parecendo ser curto nos esfregaços corados, ao contrario do que se observa a fresco. Tanto quanto foi possivel verificar em flagelados pouco diferenciados, este flagelo se origina do mesmo granulo basal que dá origem ao flagelo isolado anterior. Sempre que foi possivel divisar a membrana ondulante, esta, ao contrario do observado nos preparados a fresco, mostra-se notavelmente encurtada. Não foi possivel ver filamento basal da membrana, sendo frequentes os vacuolos. Um dos exemplares achava-se parasitado por *Sphaerita* DANGEARD, 1886, de disposição concentrica, provavelmente *Sph. minor* CUNHA & MUNIZ, 1923.

A cultura em meio ovomucoide de Houge foi facilmente obtida, desenvolvendo-se os flagelos em abundancia, permanecendo vivos até mais ou menos um mês depois de semeados, obtendo-se da mesma forma repiques com facilidade. As dimensões do flagelo vivo, em cultura, oscilaram entre 10 e 16μ. Para tirar duvidas porventura existentes sobre a extensão da membrana ondulante e o numero dos flagelos, foi feita a observação ultramicroscopica de uma cultura da 2.ª repicagem com 6 dias. Para reduzir a velocidade da movimentação dos flagelos, graças ao aumento da viscosidade do meio, fez-se a adição da clara de ovo à cultura, em partes iguais, pois em maior quantidade tem logar rapidamente fenomenos de osmose que redundam na plasmolise do flagelado. Foi possivel, graças à combinação do exame em campo escuro com o aumento de viscosidade do meio, observar que a membrana ondulante percorre toda a extensão do corpo em todos os exemplares de flagelados examinados e que os flagelos são em numero de quatro, dos quais tres anteriores e um recorrente, aderente à membrana. O citostoma poude tambem ser visto sob a forma de pequeno entalhe anterior e situado do mesmo lado da membrana (Fig. 5).

Em esfregaços das culturas que vimos mantendo, feitos 10 dias após o repique, os flagelados se apresentam com dimensão maxima de 12μ X 9μ.

geralmente piriformes, com extremidade posterior curta e aguda, nucleo compacto, geralmente de situação lateral, citostoma alongado, protoplasma muito granuloso e axostilo pouco visivel (Fig. 6). Os flagelos são extremamente longos, atingindo os tres flagelos anteriores em uma *Trichomonas* de 8μ, respectivamente, 16μ, 22μ e 24μ. A membrana ondulante é de coloração dificil, mas nas vezes em que sua presença poude ser observada, mostrou-se sinuosa, acompanhando o corpo até á extremidade posterior, sendo margeado em todo comprimento por flagelo que se apresenta livre em grande extensão.

O exame das fezes, praticado dois meses depois, revelou ainda infecção do *Tapirus* pela mesma *Trichomonas*, embora desta vez mais discreta.

Lamina tipo No. 3435, com exemplar desenhado marcado, corada pela hemateina segundo Gilberto de Freitas e depositada na coleção da Secção de Parasitologia do Instituto Butantan.

Eutrichomastix bertholdoi, sp. n.

(Fig. 7)

Em esfregaços de fezes foram vistas numerosas formas que coincidem com a morfologia atribuida aos *Eutrichomastix*. Contorno circular, periforme ou alongado, com 5 a 8μ5 de comprimento; citostoma presente, porém, geralmente invisivel, de situação lateral anterior. Nucleo anterior, volumoso, com cerca de 2μ, com ou sem cariosoma visivel. Flagelos de regra pouco cromofilos, ao contrario dos de *Trichomonas tapiri*, sp.n.. Em alguns exemplares foi, todavia, possivel contar quatro flagelos que podem atingir até 13μ em flagelado de 8μ; geralmente dois dos flagelos são longos e dois curtos, derivando tres de um mesmo bleiaroplasta e outro de um granulo situado nas proximidades. Só excepcionalmente foi possivel perceber recorrencia do flagelo. Uma faixa corada percorre o corpo do flagelo, só sendo visivel em alguns exemplares, nos quais se vê fazer saliencia na extremidade posterior.

A tentativa de obtenção de cultura em meio de Hogue não logrou bom êxito.

A especie é assim denominada em homenagem a Frei Bertholdo von Mee, que nos forneceu o hospedeiro.

Lamina tipo corada pela hemateina. No. 3380 da coleção da Secção de Parasitologia do Instituto Butantan.

RESUMO

Em esfregaços de fezes de um exemplar de *Tapirus raulinus* de Pirapora, Estado de Minas Gerais, foram encontradas as seguintes especies de protozoarios.

Endamoeba dobelli, sp. n. (Figs. 1 e 2), com forma vegetativa de 8 μ 5 a 13 μ 6 e nucleo de 2 a 2 μ 5, com cromatina disposta em granulos perifericos e cariosoma central ou sub-central com 1/6 a 1/3 do diametro do nucleo. Cistos uninucleados com 4 μ 25 a 7 μ e morfologia nuclear identica à forma vegetativa. Foi obtida cultura nos meios de Hogue e de Löffler + Ringer.

Chilomastix navasi, sp. n. (Fig. 3), com 7 μ 5 a 13 μ de comprimento e 4 μ 5 a 7 μ de maior largura, citostoma com flagelo, nucleo anterior com 2 μ 5 de diametro, sem cariosoma individualizado e sem aglomeração de cromatina nos polos. Ha tres flagelos anteriores com 5 a 10 μ. Não foi conseguida cultura em meio de Hogue, nem no de Löffler + Ringer, segundo Simitch.

Trichomonas tapiri, sp. n. (Figs. 4, 5 e 6) com 8 μ 5 a 12 μ 5 de comprimento por 6 — 12 μ 5 de largura, elipticas ou quasi circulares, de nucleo arredondado, anterior, com cerca de 3 μ, citostoma longo e estreito, axostilo fazendo saliencia, tres flagelos anteriores, cujo comprimento, pode alcançar 20 μ, partindo de 2 granulos basais. Em esfregaços de fezes corados a membrana ondulante parece curta, mas ao ultramicroscopio (Fig. 5), em cultura, foi vista percorrer todo o corpo, margeada por um flagelo aderente. Cultura facilmente obtida em meio de Hogue.

Eutrichomastix bertholdoi, sp. n. (Fig. 7). Contorno circular, piriforme ou alongado, com 5 μ a 8 μ 5, citostoma presente, nucleo anterior com cerca de 2 μ, com ou sem cariosoma visivel. Ha quatro flagelos, que podem atingir até 13 μ nos maiores exemplares, e uma faixa corada que percorre toda extensão do flagelado. Não foi conseguida cultura em meio de Hogue.

ABSTRACT

Following species of Protozoa were found in stool smears of a specimen of *Tapirus raulinus* from Pirapora, State of Minas Gerais:

Endamoeba dobelli, n. sp. (Figs. 1 a. 2). Trophozoites measuring 8 μ to 13 μ 6. Nucleus with 2 to 2 μ 5, a central or sub-central karyosome with 1/6 to 1/3 of the nucleus diameter and chromatin in shape of small peripheric granules. Uninucleated cysts with identical nuclear morphology, measuring 4 μ 25 to 7 μ. Cultures were obtained in Hogue's and Löffler-Ringer media.

Chilomastix navasi, n. sp. (Fig. 3). Species with 7 μ 5 to 13 μ in lenght and 4 μ 5 to 7 μ largest width. Anterior nucleus 2 μ 5 in diameter, without an individualized karyosome or chromatic masses at the poles. There are three anterior flagella from 5 to 10 μ. Attempts to obtain cultures in Hogue's and Löffler-Ringer media, after Simitch, were unsuccessfull.

Trichomonas tapiri. n. sp. (Fig. 4 to 6). An elliptical or almost circular species, measuring from 8 μ 5 to 12 μ 5 in length by 6 to 12 μ 5 in width. Anterior deeply staining nucleus with about 3 μ. An anterior long and narrow cytostome and a projecting axostyle may sometimes be seen. Three anterior flagella, arising from two blepharoplasta, may reach up to 20 μ in length. In stained specimens the undulating membrane seems to be short; by ultramicroscopical examination of cultures, however, she was seen to run along the whole body's length, bordered by an adherent flagellum (Fig. 5). The culture was easily obtained in Hogue's media.

Eutrichomastix bertholdoi, n. sp. (Fig. 7). With circular, piriform or elongated contour, 5 to 8 μ 5 in lenght, cytostome present. Anterior nucleus about 2 μ in lenght, with or without a visible karyosome. There are four flagella, which might reach up to 13 μ, and a stained stripe which runs along the whole extension of the flagellate. Attempts to cultivate this species in Hogue's medium were unsuccessfull.

(Trabalho da Secção de Parasitologia e Protozoologia do Instituto Butantan. Dado à publicidade em dezembro de 1940).